

**Zur Frage der Sekretion von Enzymen des
Intermediärstoffwechsels durch die
menschliche Nasenschleimhaut bei verschiedenen
Rhinopathien und Erkrankungen des
Rhinopharynx und cavum oris**

Josef Wittmann

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Biochemischen Laboratorium der Hals-
Nasen- Ohren- Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H.H.Naumann

Zur Frage der Sekretion von Enzymen des
Intermediärstoffwechsels durch die mensch-
liche Nasenschleimhaut bei verschiedenen
Rhinopathien und Erkrankungen des Rhino-
pharynx und cavum oris

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu
München

vorgelegt von
Josef Wittmann

München

1975

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Priv.- Doz. Dr. Hochstrasser

2. Berichterstatter: Prof. Dr. H.H.Naumann

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19. 12. 1975



Meiner Mutter

Frau FANNY WITTMANN, geb. WEBER

in Dankbarkeit gewidmet

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

LDH	Lactat-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
CPK	Kreatin-Phosphokinase
AP	Alkalische Phosphatase
SP	Saure Phosphatase
NAD	Nicotin-Adenin-Dinucleotid
MDH	Malat-Dehydrogenase

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

A) E i n l e i t u n g	S.1
B) T h e o r e t i s c h e r T e i l	S.3
I) V o r b e m e r k u n g	S.3
II) R e a k t i o n s s c h e m a t a d e r z u r q u a n t i t a t i v e n A n a l y s e d u r c h g e f ü h r t e n p h o t o m e t r i s c h e n T e s t s	S.4
1) L D H	
2) G O T	
3) G P T	
4) C P K	
5) A l k a l i s c h e P h o s p h a t a s e	
6) S a u r e P h o s p h a t a s e	
III) D i e i m m u n o l o g i s c h e B e s t i m m u n g d e s A l b u m i n s a l s B e z u g s g r ö ß e f ü r d i e q u a n t i t a t i v e E n z y m - a n a l y s e d e s N a s e n s e k r e t e l u a t s	S.8
C) E r g e b n i s s e	S.10
I) K u r z e D i s k u s s i o n d e r A b b i l d u n g e n I - V I	S.10
II) A b b i l d u n g e n I - V I (G r a p h i s c h e D a r s t e l l u n g e n d e r M e ß e r g e b n i s s e)	S.13
III) E r g e b n i s s e d e r E i n z e l m e s s u n g e n	S.19
1) M e ß w e r t e f ü r d i e L D H	
2) M e ß w e r t e f ü r d i e G O T	
3) M e ß w e r t e f ü r d i e G P T	
4) M e ß w e r t e f ü r d i e C P K	
5) M e ß w e r t e f ü r d i e a l k a l i s c h e P h o s p h a t a s e	
6) M e ß w e r t e f ü r d i e s a u r e P h o s p h a t a s e	

D) D i s k u s s i o n	S.27
E) E x p e r i m e n t e l l e r T e i l	S.30
I) S e k r e t e n t n a h m e	S.30
II) A u f t r a g e n d e s S e k r e t e l u a t s a u f d i e M - P a r t i g e n - - A l b u m i n - I m m u n d i f f u s i o n s p l a t t e n	S.30
III) E i c h k u r v e f ü r d i e q u a n t i t a t i v e i m m u n o l o g i s c h e A l b u m i n b e s t i m m u n g	S.31
IV) B e s t i m m u n g d e r E n z y m a k t i v i t ä t e n i m N a s e n s e k r e t	S.34
1) L D H	
2) G O T	
3) G P T	
4) C P K	
5) A l k . P h o s p h a t a s e	
6) S a u r e P h o s p h a t a s e	
F) Z u s a m m e n f a s s u n g	S.38
G) L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s	S.40

A) EINLEITUNG

Die Resorptionsfähigkeit der menschlichen Nasenschleimhaut ist bereits in umfangreichen Untersuchungen besonders vom Arbeitskreis H.H.NAUMANN beschrieben worden(1 - 9).

Die Leistung der Nasenschleimhaut besteht jedoch nicht nur in der Resorption.Beispielsweise spielt die Sekretion spezifischer Proteine für die Abwehrfunktion der Nasenschleimhaut eine wesentliche Rolle.So werden in das Nasensekret erhebliche Mengen von Lysozym sezerniert,das die Fähigkeit besitzt,Bakterienzellwände zu hydrolisieren.Eine weitere Abwehrleistung kann man sezernierten Immunglobulinen zuschreiben.Hoch-und niedermolekulare Proteaseninhibitoren stellen das letzte Glied der verschiedenen Infektabwehrsysteme dar.Sie inaktivieren Proteasen,die beim Zerfall von Makrophagen freigesetzt werden und eine Schädigung der Schleimhaut bewirken würden(10 - 13).

Die Nasenschleimhaut sezerniert offensichtlich aktiv eine Reihe von physiologisch wichtigen Substanzen.Es war nun erforderlich nach Möglichkeiten zu suchen,die eine bessere Beurteilung der Funktion der Nasenschleimhaut mittels labordiagnostischer Methoden erlauben.

In früheren Arbeiten wurde durch intravenöse Applikation von Fluorescein nachgewiesen,daß physiologischerweise keine Transsudation aus dem Intravasalraum stattfindet(14). Bei Untersuchungen an Patienten mit bestimmten internen Erkrankungen,bei denen man extrem hohe Spiegel von Enzymen

des Intermediärstoffwechsels im Serum findet, ist keine simultane Konzentrationserhöhung der wirkungsgleichen Enzyme im Nasensekret festzustellen (K. HOCHSTRASSER, K. SCHORN, V. PASEMANN, 1974). Es konnte also davon ausgegangen werden, daß die auch im Nasensekret vorhandenen Enzyme des Intermediärstoffwechsels Produkte der Nasenschleimhaut selbst sind.

In der vorliegenden Arbeit soll die Quantität der Enzymsekretion in das menschliche Nasensekret bei verschiedenen Rhinopathien und Erkrankungen des Pharynx- und Mundhöhlenbereiches bestimmt werden. Wir ermittelten die Konzentration von Enzymen, die relativ einfach gemessen werden können und bezüglich ihrer Qualität und Quantität in der Inneren Medizin zur Differentialdiagnose unabdingbar geworden sind. Es handelt sich um LDH, GOT, GPT, CPK, saure und alkalische Phosphatase.

B) THEORETISCHER TEIL

I) Vorbemerkung

Die Entdeckung vermehrter α -Amylase in Serum und Harn bei akuter Pankreasnekrose durch WOHLGEMUTH 1908 und die Beobachtung WARBURGs 1943(15), daß im Serum schon normalerweise Enzyme des Gewebsstoffwechsels auftreten, führte zur Einführung der enzymologischen Diagnostik in der Inneren Medizin.

Für die Funktion des Blutplasmas ist die katalytische Aktivität dieser Enzyme ohne Bedeutung. Man kann sicher davon ausgehen, daß dies auch für die im Nasensekret nachweisbaren Fermente hinsichtlich der Funktion des Sekretes zutrifft.

Die qualitativen und quantitativen Enzymmuster im Nasensekret könnten in diagnostischer Hinsicht (ebenso wie die Serumenzyme in der Inneren Medizin) künftig von Interesse sein, weil sie Aussagen über Schwere und Art eines pathologischen Zustandes dieser anatomischen Region sehr wahrscheinlich erlauben werden.

II) Reaktionsschemata der zur quantitativen Analyse durchgeführten photometrischen Tests

1) LDH

a) Biologische Bedeutung:

Das Enzym findet sich in fast allen Körperzellen, besonders Leber, Herz und Niere.

b) Quantitative Bestimmung:

Die LDH katalysiert den letzten Schritt der Glykolyse. Unter ihrem Einfluß wird Pyruvat in Gegenwart von Coenzym NAD reversibel in Lactat umgewandelt. Die gemessene Konzentrationszunahme an NADH_2 pro Minute gilt als Maß für die gesuchte Enzymaktivität.

2) GOT

a) Biologische Bedeutung:

Bei Zellschädigung wird das Enzym vorwiegend aus dem Herzmuskel und der Leber freigesetzt.

b) Quantitative Bestimmung:

Im Rahmen des Proteinstoffwechsels katalysiert die GOT die Übertragung der Aminogruppe von Aspartat auf α -Ketoglutarat. Das bei dieser Reaktion entstehende Oxalacetat oxydiert unter der Katalyse der Malat-Dehydrogenase das NADH_2 , dessen Konzentrationsabnahme pro Zeiteinheit eine Meßgröße für die vorhandene GOT-Menge darstellt.

3) GPT

a) Biologische Bedeutung:

Sie kommt vornehmlich in der Leber und im Herzmuskel vor. Im Gegensatz zur GOT ist sie ein extramitochondriales Zytoplasmaenzym.

b) Quantitative Bestimmung:

Als Transaminase katalysiert die GPT die reversible Übertragung der Aminogruppe von Alanin auf α -Ketoglutarat. Das entstehende Pyruvat oxydiert NADH_2 unter der katalytischen Wirkung von LDH. Die Abnahme der NADH_2 -Konzentration pro Zeiteinheit ist ein Maß für die im Testansatz vorhandene GPT-Menge.

4) CPK

a) Biologische Bedeutung:

Vor allem der Herzmuskel ist reich an diesem Enzym.

b) Quantitative Bestimmung:

Die CPK ermöglicht die Phosphatübertragung von ATP auf das Kreatin. Eine Hexokinase macht anschließend die Phosphatübertragung auf Glukose möglich. Das dann entstandene Glukose-6-phosphat steht nun zur Reduktion von NADP zur Verfügung. Die NADPH_2 -Konzentrationszunahme pro Zeiteinheit ist Meßgröße der vorhandenen CPK-Menge.

5) Alkalische Phosphatase

a) Biologische Bedeutung:

Sie findet sich in fast allen Geweben. Aktivitätssteigerung erfolgt bei Knochenerkrankungen und Gallenwegserkrankungen (z.B. Verschlusßikterus).

b) Quantitative Bestimmung:

Die Enzymaktivität wird mit p-Nitrophenylphosphat als Substrat gemessen, das in p-Nitrophenol und Phosphorsäure aufgespalten wird. p-Nitrophenol liegt beim pH-Wert des Testansatzes (pH=10,5) vollständig als gelb gefärbtes p-Nitrophenolat vor. Die Zunahme der Extinktion pro Zeiteinheit ist der Enzymaktivität in einem weiten Bereich direkt proportional.

6) Saure Phosphatase

a) Biologische Bedeutung:

Die saure Phosphatase ist ein lysosomales Enzym und dient zur intrazellulären Verdauung von pinozytierten und funktionslos gewordenen Zellbestandteilen. In der Prostata kommt eine spezifische tartrathemmable SP vor, die bei Metastasierung eines Karzinoms dieser Drüse vermehrt in das Serum abgegeben wird.

b) Quantitative Bestimmung:

Als Substrat dient p-Nitrophenylphosphat, das in p-Nitrophenol und Phosphat gespalten wird.

Bei einem pH von 4,8, bei dem das Aktivitäts-optimum der SP liegt, kann die Enzymaktivität nicht im kinetischen Test bestimmt werden. Die Enzymreaktion wird bei saurem pH durchgeführt und durch Zusatz von NaOH unterbrochen. Durch diesen Vorgang wird das bei saurem pH ungefärbte p-Nitrophenol im alkalischen pH-Bereich in das gelbgefärbte p-Nitrophenolat umgewandelt. Die während der Inkubation freigesetzte p-Nitrophenolmenge ist proportional der Aktivität der SP.

III) Die immunologische Bestimmung des Albumins
als Bezugsgröße für die quantitative Enzym-
analyse des Nasensekreteluats

Die im Nasensekret enthaltene Enzymmenge ist in ihrer absoluten Größe abhängig von der Menge des gewonnenen Sekrets.

Um eine Bezugsgröße zu erhalten mußte vor jeder Messung ein Sekretbestandteil quantitativ bestimmt werden, der als Parameter zu der im jeweiligen Ansatz enthaltenen Gesamtsekretmenge in Beziehung steht.

Da sich in allen von uns untersuchten Sekreten Serumalbumin befindet und dieses Eiweiß direkt proportional zur jeweiligen Sekretmenge abgegeben wird, kann es als quantitativer Parameter verwendet werden. Das einfachste Verfahren zu seiner Bestimmung ist die radiale Immundiffusion(16).

Das Prinzip der radialen Immundiffusion besteht darin, daß gelöste Antigenmoleküle radial von einem zylinderförmigen Startloch in eine gleichmäßig dicke, das homologe monospezifische Antiserum enthaltende Agargel unter Ausbildung eines Präzipitatzylinders diffundieren.

Die kreisförmige Grundfläche des Zylinders ist nach

beendeter Diffusion direkt proportional der Antigenmenge bei vorgegebener Antiserumkonzentration im Reaktionsgel.

Eine lineare Bezugskurve(wie unsere Eichkurve, Abb.VII) erhält man durch Auftragen des quadrierten Durchmessers als Funktion der Antigen-Konzentration.

C) ERGEBNISSE

Die Anzahl der untersuchten Fälle läßt Signifikanzberechnungen zwar nur bedingt zu, die graphische Darstellung der Resultate zeigt jedoch trotzdem interessante Aspekte.

I) Zu Abb. I (LDH)

K. HOCHSTRASSER und K. SCHORN fanden in einem größeren Probandenkollektiv ohne pathologische Erscheinungen an der Nasenschleimhaut und der oberen Luftwege Aktivitätswerte von LDH, die zwischen 200 und 400 mU liegen.

Abb. I zeigt, daß auch bei allergischer Rhinitis, behinderter Nasenatmung und chronischer Sinusitis die Werte von der physiologischen Norm nicht abweichen. Bezüglich der Trachealstenose findet man dasselbe, die Streuung ist außerdem noch sehr groß. Ebenso verhält es sich bei den Tumoren und der akuten Sinusitis maxillaris, wenn auch die Mittelwerte bei den letztgenannten Erkrankungen etwas über den physiologischerweise zu erwartenden Enzymaktivitäten liegen.

Auffallend sind die hohen Werte bei der Virusrhinitis, die das 6-bis-7-fache der ermittelten Norm erreichen.

II) Zu Abb.II(GOT)

Die physiologischen Werte liegen zwischen 5 und 60 mU. Man findet bei allen untersuchten Erkrankungen mit Ausnahme der Virusrhinitis fast dieselben Meßwerte. Nur die durch die Virusrhinitis bedingte hohe Aktivität der GOT ist auffallend. Sie erreicht das 5-bis-8-fache der Norm.

III) Zu Abb.III(GPT)

Behinderte Nasenatmung, Trachealstenose, allergische und atrophische Rhinitis liegen im Bereich der Norm von 5-15 mU. Bei den Tumoren, der Virusrhinitis und der chronischen Rhinitis kann man zwar eine Erhöhung der Enzymaktivitäten über den Normwertbereich feststellen, die Streuungen der Meßwerte bei chronischer Rhinitis und Virusrhinitis sind aber so groß, daß die GPT als Parameter pathologischer Veränderungen nicht zu verwenden ist. Eine Ausnahme machen lediglich die GPT-Werte der akuten Sinusitis maxillaris, die das 4-bis-6-fache der Norm erreichen.

IV) Zu Abb.IV(CPK)

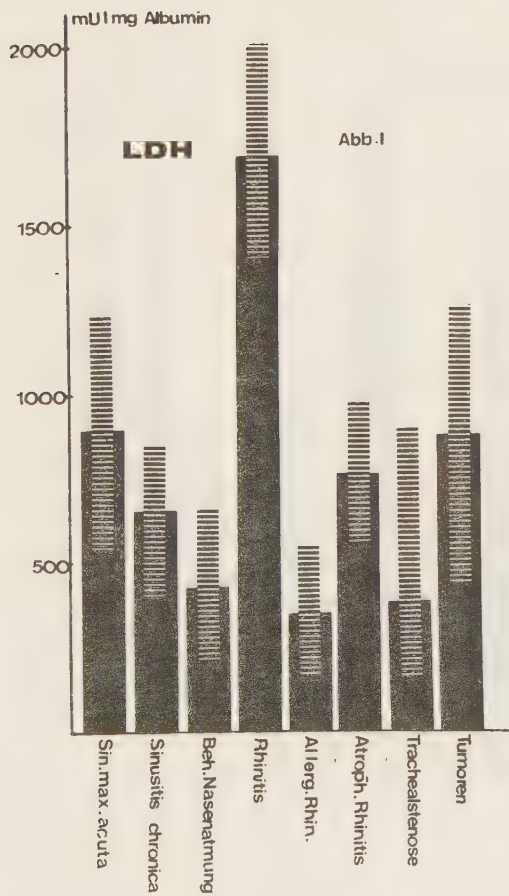
Obwohl die physiologischen Werte der CPK in einem vhm. weiten Bereich variieren, kann man dennoch wie bei der LDH und GOT eine auffallend konstant hohe Enzymaktivität der Virusrhinitis feststellen. Die CPK-Werte aller anderen Erkrankungen entsprechen der Norm, nur bei den

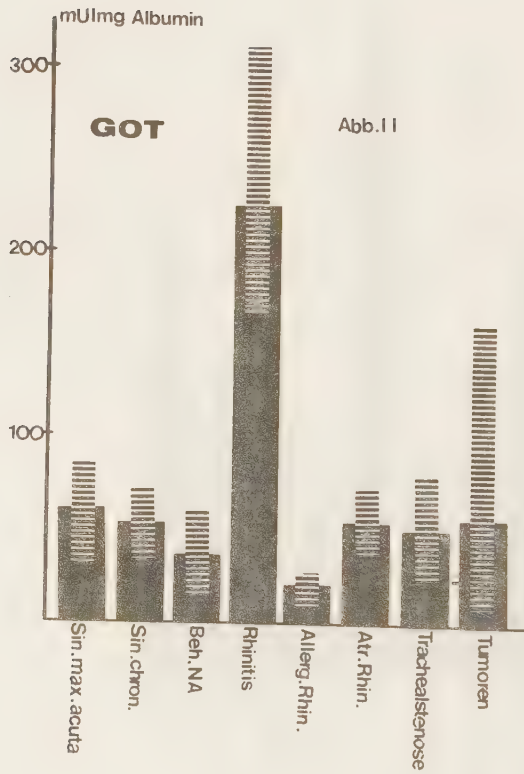
Tumoren und der akuten Sinusitis maxillaris
sind sie leicht aber nicht signifikant erhöht.

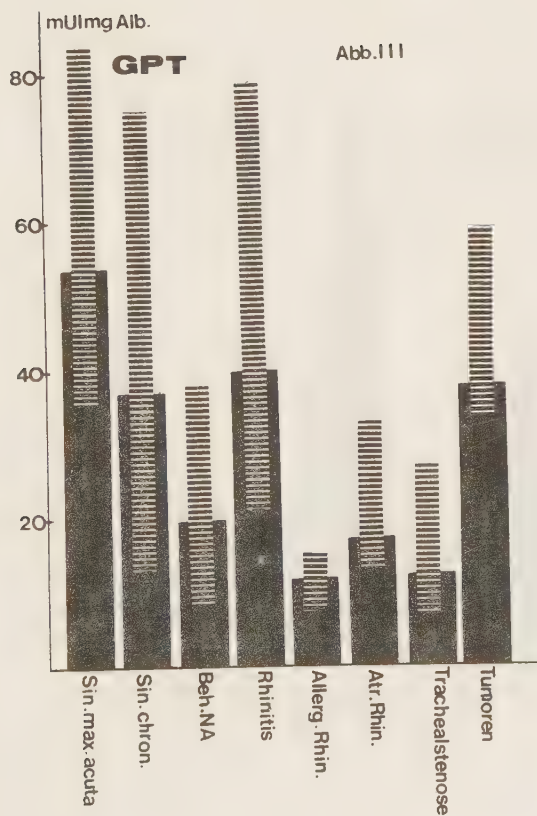
V) Zu Abb.V(AP) und Abb.VI(SP)

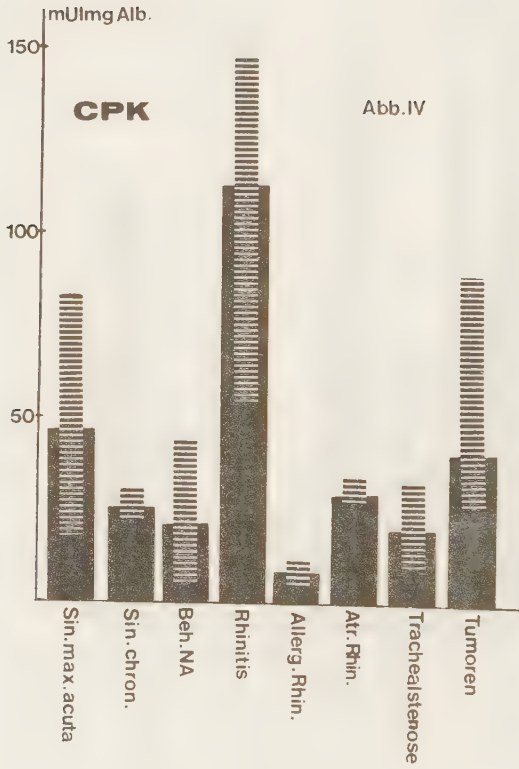
Die physiologischen Werte liegen für die SP und die
AP bei 10 mU.

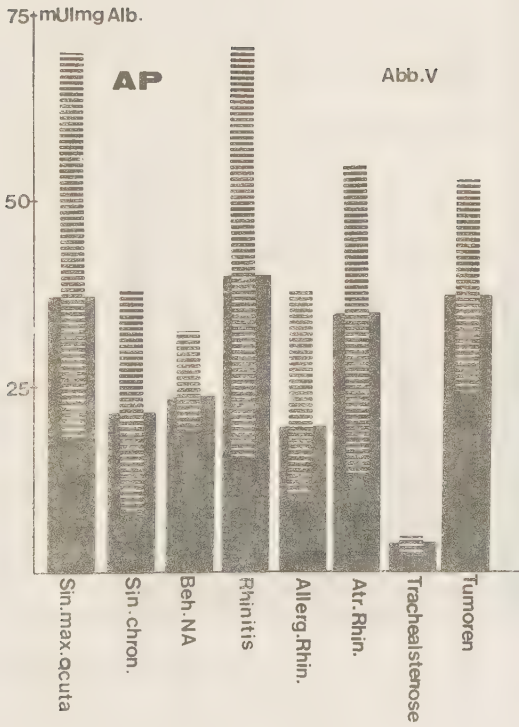
Die gefundenen Werte für die Aktivitäten der AP
und der SP lassen keinerlei Korrelation zu einem
bestimmten Krankheitsbild erkennen. Das zeigt sich schon
allein an der äußerst hohen Streubreite der Meßwerte
bei allen untersuchten Erkrankungen.

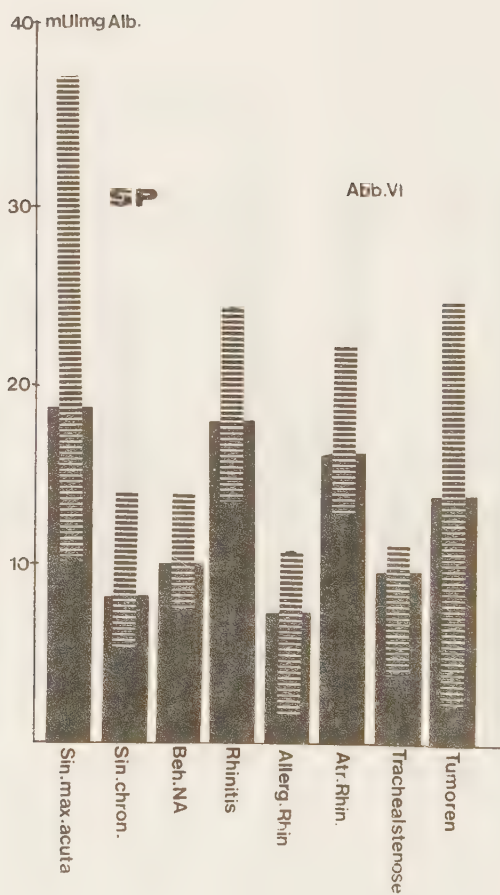












ERGEBNISSE DER EINZELMESSUNGEN

Die Zahlen geben die Enzymaktivitäten in mU/mg Albumin an.

I) Quantitative Bestimmung der LDH(Abb.I)

1) Sinusitis maxillaris acuta

1084 mU, 1053 mU, 1240 mU, 780 mU, 987 mU, 953 mU,
758 mU, 538 mU, 630 mU, 989 mU, 929 mU, 791 mU;
n=12; Mittelwert=894,42; Standardabweichung=200,39;

2) Sinusitis chronica

767 mU, 400 mU, 672 mU, 716 mU, 852 mU, 526 mU;
n=6; Mittelwert=655,00; Standardabweichung=165,55;

3) Behinderte Nasenatmung

207 mU, 242 mU, 243 mU, 497 mU, 596 mU, 643 mU,
666 mU, 392 mU;
n=8; Mittelwert=427,88; Standardabweichung=193,95;

4) Rhinitis

1813 mU, 1568 mU, 2120 mU, 1801 mU, 1612 mU, 1410 mU,
1918 mU, 1680 mU, 1525 mU, 1750 mU, 1510 mU;
n=11; Mittelwert=1700,64; Standardabweichung=206,35;

5) Allergische Rhinitis

174 mU, 550 mU, 165 mU, 422 mU, 398 mU;
n=5; Mittelwert=349,80; Standardabweichung=167,60;

6) Atrophische Rhinitis

982 mU, 560 mU, 903 mU, 696 mU, 803 mU, 614 mU;
n=6; Mittelwert=759,67; Standardabweichung=165,53;

7) Trachealstenose

163 mU, 905 mU, 167 mU, 277 mU, 477 mU, 146 mU, 513 mU;
n=7; Mittelwert=378,29; Standardabweichung=277,05;

8) Verschiedene Tumoren des Rhinopharynx und cavum oris

1200 mU(Tonsillen-Ca), 1175 mU(Tonsillen-Ca),
1271 mU(Parotis-Tu), 700 mU(Zungen-Ca),
771 mU(Oberkiefer-Ca), 444 mU(Epipharynx-Schabomyocarkom),
1223 mU(Parotis-Tu), 644 mU(Hypopharynx-Ca);
n=10; Mittelwert=874,36; Standardabweichung=287,99;

II) Quantitative Bestimmung der GOT(Abb.II)

1) Sinusitis maxillaris acuta

57 mU, 75 mU, 84 mU, 70 mU, 52 mU, 45 mU, 78 mU, 29 mU,
66 mU, 75 mU, 50 mU, 54 mU;
n=12; Mittelwert=61,25; Standardabweichung=16,13;

2) Sinusitis chronica

73 mU, 37 mU, 52 mU, 36 mU, 66 mU, 50 mU;
n=6; Mittelwert=52,33; Standardabweichung=14,98;

3) Behinderte Nasenatmung

32 mU, 16 mU, 24 mU, 19 mU, 38 mU, 41 mU, 48 mU, 40 mU, 60 mU;
n=9; Mittelwert=35,33; Standardabweichung=14,19;

4) Rhinitis

211 mU, 188 mU, 187 mU, 202 mU, 311 mU, 220 mU, 305 mU,
325 mU, 170 mU, 210 mU, 195 mU, 165 mU;
n=12; Mittelwert=224,08; Standardabweichung=56,49;

5) Allergische Rhinitis

18 mU, 27 mU, 11 mU, 21 mU, 14 mU, 18 mU;
n=6; Mittelwert=18,20; Standardabweichung=6,22;

6) Atrophische Rhinitis

38 mU, 65 mU, 72 mU, 61 mU, 55 mU, 49 mU;

n=6; Mittelwert=56,67; Standardabweichung=24,03;

7) Trachealstenose

34 mU, 80 mU, 47 mU, 69 mU, 22 mU;

n=5; Mittelwert=50,40; Standardabweichung=24,03;

8) Verschiedene Tumoren des Rhinopharynx und cavum oris

81 mU(Tonsillen-Ca), 163 mU(Tonsillen-Ca),

88 mU(Parotis-Tu), 122 mU(Zungen-Ca), 17 mU(Tonsillen-Ca),

25 mU(Kieferhöhlen-Ca), 81 mU(Tonsillen-Ca)

21 mU(Zungen-Ca), 41 mU(Oberkiefer-Ca),

68 mU(Parotis-Tu), 38 mU(Oberkiefer-Ca),

10 mU(Epipharynx-Rhabdomyosarkom), 45 mU(Zungen-Ca),

16 mU(Kieferhöhlensarkom), 11 mU(Nasen-Ca),

28 mU(Kieferhöhlen-Ca), 88 mU(Tonsillen-Ca),

70 mU(Hypopharynx-Ca);

n=18; Mittelwert=56,28; Standardabweichung=42,25;

III) Quantitative Bestimmung der GPT(Abb.III)

1) Sinusitis maxillaris acuta

39 mU, 36 mU, 50 mU, 84 mU, 50 mU, 59 mU, 35 mU, 45 mU,

70 mU, 50 mU, 71 mU, 54 mU;

n=12; Mittelwert=53,55; Standardabweichung=15,83;

2) Sinusitis chronica

60 mU, 76 mU, 13 mU, 22 mU;

n=4; Mittelwert=36,80; Standardabweichung=29,27;

3) Behinderte Nasenatmung

17 mU, 17 mU, 16 mU, 14 mU, 17 mU, 19 mU, 11 mU,
34 mU, 8 mU, 38 mU;
n=10; Mittelwert=19,20; Standardabweichung=9,44;

4) Rhinitis

43 mU, 28 mU, 30 mU, 61 mU, 79 mU, 26 mU, 24 mU, 75 mU,
18 mU, 38 mU, 21 mU, 37 mU, 35 mU, 43 mU;
n=14; Mittelwert=39,86; Standardabweichung=19,18;

5) Allergische Rhinitis

7 mU, 15 mU, 8 mU, 9 mU, 14 mU;
n=5; Mittelwert=10,6; Standardabweichung=3,65;

6) Atrophische Rhinitis

19 mU, 33 mU, 10 mU, 18 mU, 8 mU, 9 mU, 19 mU, 5 mU,
26 mU, 7 mU, 22 mU;
n=11; Mittelwert=16,90; Standardabweichung=8,88;

7) Trachealstenose

27 mU, 7 mU, 7 mU, 9 mU, 10 mU, 12 mU;
n=6; Mittelwert=12,00; Standardabweichung=8,49;

8) Verschiedene Tumoren des Rhinopharynx und cavum oris

33 mU(Tonsillen-Ca), 34 mU(Hypopharynx-Ca),
59 mU(Parotis-Tu), 34 mU(Kieferhöhlensarkom)
58 mU(Hypopharynx-Ca), 38 mU(Tonsillen-Ca);
n=6; Mittelwert=38,29; Standardabweichung=16,19;

IV) Quantitative Bestimmung der CPK(Abb.IV)

1) Sinusitis maxillaris acuta

20 mU, 18 mU, 43 mU, 53 mU, 83 mU, 71 mU, 39 mU;
n=7; Mittelwert=46,80; Standardabweichung=18,40;

2) Sinusitis chronica

27 mU, 21 mU, 23 mU, 31 mU, 23 mU;
n=5; Mittelwert=25,00; Standardabweichung=4,00;

3) Behinderte Nasenatmung

13 mU, 10 mU, 5 mU, 45 mU, 33 mU;
n=5; Mittelwert=21,20; Standardabweichung=17,04;

4) Rhinitis

147 mU, 54 mU, 120 mU, 145 mU, 120 mU, 148 mU, 80 mU,
94 mU, 102 mU, 120 mU, 115 mU;
n=11; Mittelwert=113,18; Standardabweichung=29,34;

5) Allergische Rhinitis

7 mU, 5 mU, 10 mU, 12 mU;
n=4; Mittelwert=8,50; Standardabweichung=3,11;

6) Atrophische Rhinitis

29 mU, 30 mU, 36 mU, 28 mU;
n=4; Mittelwert=30,75; Standardabweichung=3,59;

7) Trachealstenose

8 mU, 22 mU, 24 mU, 33 mU, 21 mU, 21 mU, 30 mU, 13 mU,
21 mU, 10 mU, 12 mU;
n=11; Mittelwert=19,55; Standardabweichung=8,04;

8) Verschiedene Tumoren des Rhinopharynx und cavum oris

33 mU(Zungen-Ca), 89 mU(Epipharynxfibrosarkom),
76 mU(Hypopharynx-Ca), 44 mU(Parotis-Tu),

26 mU(Parotis-Tu), 47 mU(Kieferhöhlenosteom),
29 mU(Tonsillen-Ca), 25 mU(Tonsillen-Ca),
24 mU(Epipharynx-Rhabdomyosarkom), 30 mU(Zungen-Ca),
35 mU(Epipharynxfibrom);
n=11; Mittelwert=41,64; Standardabweichung=21,69;

V) Quantitative Bestimmung der alkalischen Phosphatase(Abb.V)

1) Sinusitis maxillaris acuta

33 mU, 19 mU, 70 mU, 27 mU, 33 mU, 34 mU, 63 mU, 20 mU;
n=8; Mittelwert=37,38; Standardabweichung=18,97;

2) Sinusitis chronica

38 mU, 15 mU, 18 mU, 20 mU, 52 mU, 13 mU, 16 mU, 10 mU,
12 mU, 23 mU, 15 mU, 28 mU, 7 mU, 28 mU, 8 mU, 38 mU;
n=16; Mittelwert=21,17; Standardabweichung=12,15;

3) Behinderte Nasenatmung

23 mU, 18 mU, 21 mU, 32 mU;
n=4; Mittelwert=23,5; Standardabweichung=6,03;

4) Rhinitis

15 mU, 71 mU, 31 mU, 45 mU, 31 mU, 61 mU, 51 mU, 43 mU,
18 mU, 44 mU, 40 mU;
n=11; Mittelwert=40,91; Standardabweichung=16,84;

5) Allergische Rhinitis

15 mU, 10 mU, 12 mU, 20 mU, 15 mU, 28 mU, 38 mU, 18 mU;
n=8; Mittelwert=19,50; Standardabweichung=9,29;

6) Atrophische Rhinitis

45 mU, 37 mU, 55 mU, 27 mU, 21 mU, 37 mU, 32 mU, 52 mU,
28 mU, 37 mU, 50 mU, 23 mU, 42 mU, 13 mU, 18 mU;
n=15; Mittelwert=34,47; Standardabweichung=12,83;

7) Trachealstenose

4 mU, 2 mU, 3 mU;

n=3; Mittelwert=3,50; Standardabweichung=1,29;

8) Verschiedene Tumoren des Rhinopharynx und cavum oris

53 mU (Tonsillen-Ca), 34 mU (Tonsillen-Ca),

24 mU (Zungen-Ca);

n=3; Mittelwert=37,00; Standardabweichung=14,73;

VI) Quantitative Bestimmung der sauren Phosphatase (Abb. VI)

1) Sinusitis maxillaris acuta

11,55 mU, 37,1 mU, 10,0 mU, 17,0 mU, 16,0 mU, 22,5 mU;

n=6; Mittelwert=18,94; Standardabweichung=9,92;

2) Sinusitis chronica

12,5 mU, 6,2 mU, 5,0 mU, 5,0 mU, 6,0 mU, 6,6 mU, 7,4 mU,

5,0 mU, 11,0 mU, 14,0 mU, 9,9 mU, 9,0 mU;

n=12; Mittelwert=8,15; Standardabweichung=3,09;

3) Behinderte Nasenatmung

7,4 mU, 8,9 mU, 14,0 mU, 9,0 mU;

n=4; Mittelwert=9,83; Standardabweichung=2,88;

4) Rhinitis

18,4 mU, 20,0 mU, 15,0 mU, 21,0 mU, 13,5 mU, 24,5 mU,

20,0 mU, 19,5 mU, 18,5 mU, 15,0 mU, 17,0 mU;

n=11; Mittelwert=18,40; Standardabweichung=3,15;

5) Allergische Rhinitis

5,9 mU, 6,5 mU, 4,8 mU, 10,8 mU, 8,0 mU, 8,6 mU, 6,7 mU,

8,0 mU, 7,2 mU;

n=9; Mittelwert=7,24; Standardabweichung=1,7;

6) Atrophische Rhinitis

13,0 mU, 22,5 mU, 13,7 mU, 16,5 mU;

n=4; Mittelwert=16,40; Standardabweichung=5,29;

7) Trachealstenose

7,9 mU, 4,0 mU, 11,2 mU, 15,0 mU;

n=4; Mittelwert=9,53; Standardabweichung=4,69;

8) Verschiedene Tumoren des Rhinopharynx und cavum oris

24,8 mU(Parotis-Tu), 4,2 mU(Nasen-Ca), 9,8 mU(Tonsillen-Ca),

6,5 mU(Oberkiefer-Ca), 6,4 mU(Tonsillen-Ca),

8,0 mU(Oberkiefer-Ca), 2,0 mU(Kieferhöhlensarkom),

5,5 mU(Oberkiefer-Ca), 9,0 mU(Tonsillen-Ca),

5,9 mU(Oberkiefer-Ca), 25,1 mU(Parotis-Tu),

3,4 mU(Nasen-Ca), 27,7 mU(Tonsillen-Ca),

23,8 mU(Zungen-Ca), 16,2 mU(Tonsillen-Ca),

19,2 mU(Tonsillen-Ca), 14,0 mU(Kieferhöhlenosteom),

24,1 mU(Tonsillen-Ca);

n=18; Mittelwert=13,81; Standardabweichung=8,7;

D) DISKUSSION

Da in der Inneren Medizin Enzymaktivitätsbestimmungen zur Diagnose und Differentialdiagnose von Erkrankungen innerer Organe mit großem Erfolg durchgeführt werden, drängte sich uns die Frage auf, ob nicht auch eine Korrelation bestimmter Enzymaktivitätsmuster zu pathologischen Veränderungen des oberen Respirationstraktes insbesondere der Nasenschleimhaut besteht. Zunächst mußte ermittelt werden, welche Enzymmengen physiologischerweise, also bei Probanden ohne krankhafte Erscheinungen an der Nasenschleimhaut, gemessen werden.

K. HOCHSTRASSER und K. SCHORN fanden folgende Enzymaktivitäten bezogen auf 1 mg Albumin:

- 1) GOT: Werte zwischen 5 und 60 mU
- 2) GPT: Werte zwischen 5 und 15 mU
- 3) AP: Werte um 10 mU
- 4) SP: Werte um 10 mU
- 5) LDH: Werte zwischen 200 und 400 mU
- 6) CPK: Werte variieren in einem weiten Bereich

Wenn es tatsächlich möglich sein sollte Enzymbestimmungen für biochemische Funktionsanalysen des oberen Respirationstraktes heranzuziehen, dann müßten die pathologischen Werte deutlich von den physiologischen abweichen, weil letztere eine verhältnismäßig große Schwankungsbreite aufweisen.

Wir überprüften die Enzymaktivitäten bei Erkrankungen der Nasenschleimhaut, der Nasennebenhöhlen, Trachealstenosen und Tumoren des Rhinopharynx und cavum oris. Aufgrund unserer Messungen können wir folgende Aussagen machen:

- 1) Bei der SP und der AP sind nur die Enzymaktivitäten der Virusrhinitis, der Sinusitis maxillaris acuta und der atrophischen Rhinitis erhöht. Sie liegen etwa im doppelten Normbereich. Die klinisch-diagnostische Anwendung der Bestimmung dieser Enzyme ist jedoch nicht möglich, da die Streubreite der Meßwerte zu groß ist.
- 2) Auch die Aktivität der GPT zeigt bei fast allen untersuchten Krankheitsbildern eine so weitgehende Streuung, daß dieses Enzym in unserem Zusammenhang für diagnostische Zwecke nicht in Betracht kommt.
- 3) Besonders auffallend sind die hohen Aktivitäten von LDH, GOT und CPK bei der Virusrhinitis. Sie erreichen das 5-bis-8-fache der Norm, während die Werte für die atrophische Rhinitis bei allen drei Enzymen etwa der Norm entsprechen. Hier kann eine eindeutige differentialdiagnostische Abgrenzung vorgenommen werden.

4)Für die allergische Rhinitis lassen sich durchwegs nur Enzymaktivitäten messen, die auffallend weit unter dem Normwert liegen.

5)Die Enzymaktivitäten bei Tumoren im Hals-Nasen-Ohren-Bereich und bei Trachealstenosen streuen sehr stark, sodaß eine Korrelation zwischen Enzymaktivität und Krankheitsbild nicht angenommen werden kann. Dasselbe gilt für die behinderte Nasenatmung, wobei die Phosphatasenwerte eine gewisse aber diagnostisch nicht verwertbare Ausnahme bilden.

6)Eine klinische Anwendbarkeit der erhobenen Befunde ergibt sich bereits jetzt. Es ist offensichtlich, daß durch die Bestimmung von LDH, GOT und CPK mit routinemäßigen Methoden eine Virusrhinitis eindeutig von anderen Rhinitiden insbesondere der allergischen Rhinitis abgegrenzt werden kann. Eine Rhinitis mit besonders niedrigen Aktivitätswerten von LDH, GOT und CPK ist mit großer Sicherheit allergisch bedingt, mit großer Wahrscheinlichkeit nicht bakterieller und bestimmt nicht viraler Genese.

E) EXPERIMENTELLER TEIL

I) Sekretentnahme

Sie erfolgt durch Einlegen zweier mit physiologischer NaCl-Lösung getränkter Wattetampons in die Nasengänge (etwa 30 Minuten). Das von den Tampons aufgesogene Sekret wird anschließend in 2,5 ml Boratpuffer pH 8, 0,05-molar, ausgewaschen und mit der Pinzette noch gründlich extrahiert. Nach Abzentrifugieren kann der Überstand für die Messungen verwendet werden(17)(18).

II) Auftragen des Sekreteluats auf die Partigen-M-Albumin-
-Immundiffusionsplatten

Pro Patient werden 2 Stanzlöcher mit 14 μ l bzw. 10 μ l aufgefüllt. Die 2 Werte pro Patient erlauben eine gute Kontrolle des Ergebnisses, weil man sich aus dem Radius des 10 μ l-Wertes den des 14 μ l-Wertes erst berechnen und danach den berechneten Wert mit dem gemessenen vergleichen kann.

Die Auswertung ist frühestens nach einem Tag möglich. Sie erfolgt durch Ausmessen des Präzipitatrings durchmessers mit der speziell für Partigenplatten angefertigten Meßschablone (BEHRINGWERKE MARBURG), die eine ausreichende Meßgenauigkeit erlaubt.

Für das Serum-Albumin wird ein Normalbereich von 3500-5500 mg% angegeben. Zur Bestimmung ist es notwendig eine Verdünnung anzufertigen, die dem Meßbereich der M-Partigenplatten von 50-600 mg% Rechnung trägt.

Dabei ergibt sich die Schwierigkeit einerseits genügend Substrat für die Enzymbestimmungen herstellen zu müssen, andererseits aber die Albuminkonzentration genügend hochzuhalten (d.h. nicht mit zuviel Puffer zu eluieren), sodaß sich eindeutige Präzipitatzylinder ausbilden können. Die Eluatmenge von 2,5 ml zeigte sich als optimal.

III) Aufstellen der Eichkurve für die quantitative immunologische Albumin-Bestimmung (Abb. VII)

Wir verwendeten das stabilisierte Standard-Human-Serum der BEHRINGWERKE MARBURG.

Laut Anleitungsbeilage sind 5260 mg Albumin in 100 ml SHS enthalten.

Zunächst werden 3 Verdünnungen angefertigt:

1:40 = 0,1 ml SHS mit 4 ml physiol. NaCl-Lösung

1:20 = 0,1 ml SHS mit 2 ml physiol. NaCl-Lösung

1:10 = 0,1 ml SHS mit 1 ml physiol. NaCl-Lösung

Nach Auftragen auf die Partigen-Platten (je 14 μ l bzw. 10 μ l pro Verdünnung) kann die Ausmessung der Präzipitarringdurchmessers nach 2 Tagen erfolgen.

Es ergaben sich für die Eichkurve folgende Meßergebnisse:

1) Für die Verdünnung 1:40

35 mm² entsprechen 1,3 mg Albumin pro ml Testansatz

2) Für die Verdünnung 1:20

75 mm² entsprechen 2,5 mg Albumin pro ml Testansatz

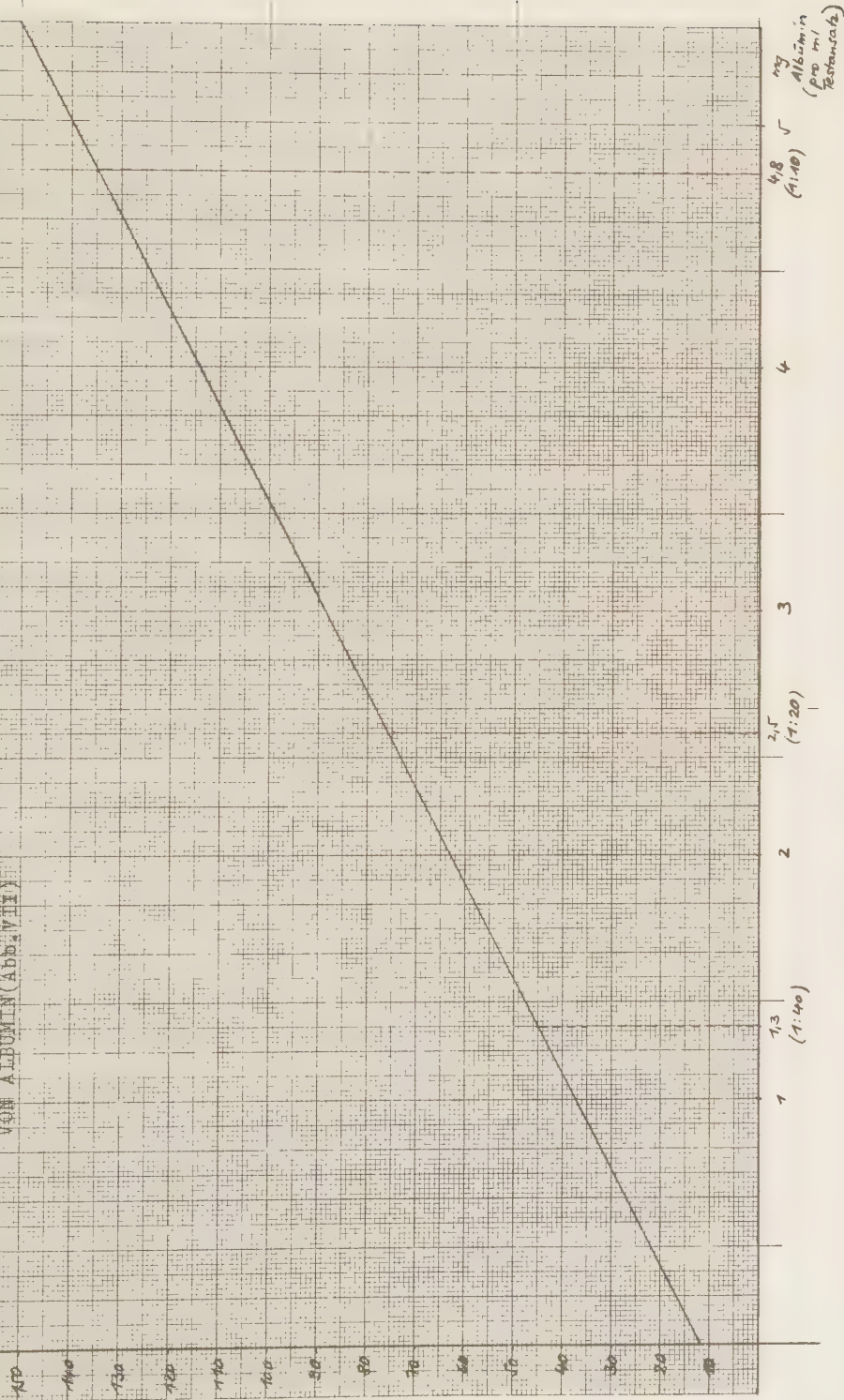
3) Für die Verdünnung 1:10

135 mm² entsprechen 4,8 mg Albumin pro ml Testansatz

Wie in der Abb.VII ausgeführt, werden die Quadrate der Präzipitatriנגdurchmesser(d^2) auf der Ordinate, die korrespondierenden Albuminmengenwerte auf der Abszisse aufgetragen. Als Funktion zwischen beiden erhält man eine Gerade.

$\alpha^2 (\text{mg} \cdot \text{cm}^{-1})$

EICHKURVE ZUR BESTIMMUNG
VON ALBUMIN (Abb. VII)



mg
Albumin
(pro ml
Estersatz)

4,8
(1:10) ✓

4

3

2,5
(1:20)

2

1,3
(1:40)

1

IV) Bestimmung der Enzymaktivitäten im Nasensekret

1) LDH(19)(20)(21)

a) Material:

Lösung 1: 50mM Phosphatpuffer pH 7,5; 0,6 mM Pyruvat

Lösung 2: 0,18 mM NADH

b) Methode:

3 ml Lösung 1, 0,05 ml Lösung 2 und 0,1 ml Sekreteluat werden in eine Küvette pipettiert, mit einem Spatel gemischt, und die Extinktion nach genau 1,2 und 3 Minuten am Photometer (Hg 366 nm, 25°C) abgelesen. Aus den Extinktionsdifferenzen pro min wird der Mittelwert gebildet und in die Berechnung eingesetzt.

Volumenaktivität = $9545 \times \Delta E / \text{min} (\text{mU/ml})$

2) GOT(22)(23)

a) Material:

80 mM Phosphatpuffer pH 7,4

12 mM α -Ketoglutarat

200 mM L-Aspartat

0,18 mM NADH

600 U MDH pro Liter Testansatz

b) Methode:

Der Inhalt eines Probefläschchens wird mit 3 ml aq. bidest. gelöst (25°C), nach 2 min werden 0,5 ml Sekreteluat zugesetzt und gemischt. Lösung wird nun in 1 cm-Küvette gegossen und nach 1 min die Extinktion am Photometer bei 366 nm abgelesen.

Nach genau weiteren 1,2 und 3 min Wiederholung der Ablesung. Der Mittelwert der Extinktionsdifferenzen wird in die Berechnung eingesetzt:

$$2121 \times \Delta E/\text{min} = \text{mU/ml Eluat.}$$

3) GPT(24)

a) Material:

80 mM Phosphatpuffer pH 7,4
18 mM α -Ketoglutarat
800 mM L-Alanin
0,18 mM LDH/Liter Testansatz

b) Methode:

Entspricht derjenigen von GOT

4) CPK(25)(26)(27)

a) Material:

Lösung 1: 0,11 M Triäthanolaminpuffer pH 7,0
22 mM Glukose; 11 mM Mg-Acetat; 1,1 mM ADP
11 mM AMP; 0,65 mM NADP; 38 mM Kreatinphosphat
Suspension: 1 mg Hexokinase/ml; 1 mg G-6-P-DH/ml
Lösung 2: 0,25 M Glutathion

b) Methode:

2,5 ml Lösung 1, 0,02 ml der Suspension, 0,1 ml Lösung 2 und 0,1 ml Eluat werden gemischt und 5 min bei 25°C stehengelassen. Dann wird das Gemisch in die Küvette gegossen und die Anfangsextinktion (Hg 366 nm) abgelesen. Nach genau 1,2,3,4 und 5 min Wiederholung der Ablesung. Man berechnet schließlich aus den

Extinktionsdifferenzen pro min den Mittelwert

und setzt diesen in die Berechnung ein:

Volumenaktivität = $8242 \times \Delta E / \text{min}(\text{mU/ml})$

5) Saure Phosphatase(28)(29)(30)

a) Material:

Lösung: 50 mM Citratpuffer pH 8,4; 5,5 mM Natrium-
-p-nitro-phenylphosphat

b) Methode:

In den Leerwertansatz wird 1 ml der Lösung, in
den Probenansatz 1 ml der Lösung und 0,2 ml
Eluat einpipettiert. Man läßt nun beide Ansätze
genau 30 min bei 37°C im Wasserbad stehen. Nach
diesem Zeitintervall werden je 10 ml Natron-
lauge 0,02-normal zugegeben, in den Leerwert-
ansatz außerdem noch 0,2 ml Eluat.
Nach Eingießen in die Küvetten mißt man die
Extinktion der Probe gegen den Leerwert (Hg 405 nm).
Man erhält den Differenzwert ΔE . Die Volumen-
aktivität berechnet sich nach der Gleichung:

Volumenaktivität = $101 \times \Delta E (\text{mU/ml})$

6) Alkalische Phosphatase(31)(32)(33)

a) Material:

Lösung: 50 mM Glycinpuffer pH 10,5; 0,5 mM MgCl_2 ;
5,5 mM Natrium-p-nitro-phenylphosphat

b) Methode:

2 ml der Lösung (25°C) und 0,05 ml des Eluats

werden in eine Küvette pipettiert, mit dem Spatel gemischt und 1 min bei 25°C im Thermostaten stehen gelassen. Dann wird die Anfangsextinktion (405 nm) abgelesen und nach 1, 2 und 3 min die Ablesung wiederholt.

Der Mittelwert der Extinktionsdifferenzen pro min wird in die Berechnung eingesetzt:

$$\text{Volumenaktivität} = 2216 \times \Delta E / \text{min} (\text{mU/ml})$$

Mit Volumenaktivität ist, wie selbstverständlich auch bei den vorhergehenden Messungen, die Enzymaktivität pro Volumeneinheit gemeint.

F) ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Eine Reihe von Enzymen des Intermediärstoffwechsels ist auch im Nasensekret des Menschen nachweisbar. Wir untersuchten die Aktivitäten von LDH, GOT, GPT, CPK, saurer und alkalischer Phosphatase.
- 2) K. HOCHSTRASSER und K. SCHORN bestimmten die sezernierten Enzymmengen bei physiologischem Zustand der Schleimhaut. Es konnten nun die Aktivitäten unter pathologischen Schleimhautverhältnissen gemessen und mit ersteren verglichen werden. Die Messungen wurden für folgende Erkrankungen durchgeführt: Akute und chronische Sinusitis maxillaris, behinderte Nasenatmung, Virusrhinitis, allergische und atrophische Rhinitis, Trachealstenose und verschiedene Tumoren des Rhinopharynx und cavum oris.
- 3) Da die gewonnene Sekretmenge für jeden einzelnen Fall unterschiedlich ist, mußten wir einen Sekretbestandteil quantitativ bestimmen, der als Parameter zu der im jeweiligen Ansatz enthaltenen Gesamtsekretmenge direkt in Beziehung steht. Wir wählten das Albumin und bestimmten es mit Hilfe der radialen Immundiffusion nach MANCINI. Anhand der mit Standard-Human-Serum aufgestellten Eichkurve (Abb. VII) kann

die Albuminmenge nach Ausmessen des jeweiligen Präzipitatringdurchmessers direkt abgelesen werden.

4) Die photometrisch gemessenen Enzymaktivitäten mußten auf die einem Milligramm Albumin entsprechenden Aktivitäten umgerechnet werden.

5) Wir können aufgrund unserer Messungen feststellen, daß Tumoren im HNO-Bereich und Trachealstenosen offenbar die Sekretion von Enzymen durch die Nasenschleimhaut nicht beeinflussen. Für die Sinusitiden reicht die Anzahl der Messungen nicht aus, um sich ein abschließendes Urteil bilden zu können. Als eindeutigstes Ergebnis konnten wir finden, daß LDH, GOT und CPK bezüglich ihrer Aktivitäten bei Virusrhinitis ein Vielfaches der Norm erreichen, während die Aktivitäten dieser Enzyme bei der allergischen Rhinitis deutlich unter der Norm liegen. Hier ist eine sichere differentialdiagnostische Abgrenzung möglich, die der Aussagequalität von Enzymmessungen in der Inneren Medizin gleichkommt.

G) LITERATURVERZEICHNIS

- 1) H.H.Naumann, Vortrag vor der Deutschen Gesellschaft der HNO-Ärzte, XXIX. Jahresversammlung, 1958
- 2) H.H.Naumann, Z. Laryng. Rhinol. 28 (1949)
- 3) H.H.Naumann, Allergie und Asthma 7, 250 (1961)
- 4) H.H.Naumann, Fortschr. HNO-Heilkunde 5, 107 (1959)
- 5) H. Breuninger, U. Feine, Arch. Klin. Exp., Ohr-Nas.-Kehlk.-Heilkunde 191, 662 (1968)
- 6) W.H.Naumann, M. Münzel, Arch. Klin. Exp., Ohr-Nas.-Kehlk.-Heilkunde 202, 368 (1972)
- 7) M. Münzel, W.H.Naumann, Intern. Rhinol. 9, 111 (1971)
- 8) W.H.Naumann, M. Münzel, Arch. Klin. Exp., Ohr-Nas.-Kehlk.-Heilkunde 191, 665 (1968)
- 9) M. Münzel, K. Hochstrasser, Z. Laryng. Rhinol. 52, 144 (1973)
- 10) K. Hochstrasser, R. Reichert, M. Matzner, E. Werle, Z. physiol. Chem. 352 (1971)
- 11) K. Hochstrasser, R. Reichert, M. Matzner, E. Werle, Z. klin. Chem. u. Biochem. 10, 104-107 (1972)

- 12) R.Reichert,K.Hochstrasser,Z.Laryng.Rhinol. 51,73(1972)
- 13) K.Hochstrasser,K.Schorn,Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem.
Bd.355,S.640-646(1974)
- 14) S.Ingelstedt,B.Ivstam,Acta Oto-Laryngologica,
Vol. XXXVII 1950,S.446-450 u. S.451-455
- 15) O.Warburg,W.Christian,Biochem.Z.314,399(1943)
- 16) G.Mancini,A.O.Carbonara,J.F.Heremans,
Immunochemistry 2,235(1965)
- 17) R.Reichert,K.Hochstrasser,E.Werle,
Klin.Wschr.49,1234-1236(1971)
- 18) K.Hochstrasser,H.Haendle,R.Reichert,E.Werle,
Z.physiol.Chem. 352(1971)
- 19) F.Wroblewski,Proc.Soc.exp.Biol.Med.90,210(1955)
- 20) Z.klin.Chem.u.klin.Biochem.8,658(1970);
10,182(1972)(Boehringer Mannheim)
- 21) P.G.Cabaud,F.Wroblewski,V.Ruggiero,
Amer.J.clin.Pathol.30,234(1958)
- 22) U.Bergmeyer,Methoden der enzym.Analyse,
Bd.I,S.770 u. 786(1974)

- 23) P.P.Cohen in S.P.Colowick u. N.O.Kaplan,Methods in Enzymology,Acad.Press,New York 1955,Bd.II,S.178
- 24) F.Wroblewski,J.S.La Due,Proc.Soc.exp.Biol.Med.91,569(1956)
- 25) J.T.Oliver,Biochem.J.61,116(1955)
- 26) G.Szasz,Dtsch.med.Wschr.95,829(1970)
- 27) M.L.Tanzer,C.Gilvarg,J.biol.Chem.234,3201(1959)
- 28) W.H.Fishman,J.biol.Chem.200,89(1953)
- 29) E.u.F.Schmidt,Med.Hochschule Hannover,pers.Mitt.
- 30) O.A.Bessey,J.biol.Chem.164,321(1946)
- 31) R.Richterich,Schweiz.med.Wschr.92,1496(1962)
- 32) R.Richterich,Schweiz.med.Wschr.92,781(1962)
- 33) S.J.Walter,Ärztl.Lab.10,220(1964)

Bei Herrn Prof. Dr. H.H.Naumann möchte ich mich
für die hervorragenden Arbeitsbedingungen bedanken.

Außerdem gilt mein herzlicher Dank Herrn
Priv.- Doz. Dr. K.Hochstrasser für die Überlassung
des Themas und sein Interesse an der Arbeit.
Er hat mir, zusammen mit Frau Dr. K.Schorn, viele
wertvolle Hinweise und Ratschläge erteilt.

Lebenslauf

Am 18. August 1949 wurde ich, Josef Anton Wittmann, als drittes Kind der Eheleute Franz und Franziska Wittmann in Großköllnbach bei Landau/Isar (Bayern) geboren.

Nach Besuch der dortigen Volksschule trat ich 1959 zum Neusprachlichen Gymnasium Dingolfing über und legte 1969 die Reifeprüfung ab (Hauptfächer: Latein, Französisch, Deutsch).

Im Oktober desselben Jahres begann ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München und bestand 1970 die naturwissenschaftliche, 1972 die ärztliche Vorprüfung. Die ärztliche Prüfung konnte ich im Herbst 1975 erfolgreich abschließen.

Josef A. Wittmann

